

RESORPTIONSVERSUCHE MIT
RADIOAKTIV MARKIERTEN MONOSACCHARIDEN
IN VARIERTEN MISCHUNGSVERHÄLTNISSEN
VERGlichen MIT DISACCHARIDEN

Hans-Jürgen Nawrath

1967

AUS DER MEDIZINISCHEN POLIKLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN
Direktor: Professor Dr. W. SEITZ
UND DEM BIOCHEMISCHEN LABORATORIUM
DER TECHNISCHEN HOCHSCHULE MÜNCHEN
Direktor: Professor Dr. W. LAMPRECHT

RESORPTIONSVERSUCHE MIT RADIOAKTIV MARKIERTEN MONO-
SACCHARIDEN IN VARIERTEN MISCHUNGSVERHÄLTNISSEN
VERGlichen MIT DISACCHARIDEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Häns-Jürgen N a w r a t h
aus München

München 1967

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent: Professor Dr. K. STUHLFAUTH
Correferent: Professor Dr. W. SEITZ
Dekan: Professor Dr. F. HOLLE

Tag der mündlichen Prüfung: 14. 11. 1967



INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
Einleitung:	
a) Abbauwege der Glucose	5
b) Abbauwege der Fructose	6
c) Umwandlung der Fructose in Glucose und Glycogen in der Leber, Niere und im Darm	9
d) Abbauwege der Saccharose	11
e) Abbauwege der Galaktose	11
f) Abbauwege der Lactose	13
Aufgabenstellung	14
Methodik:	
a) Gewinnung des biologischen Materials	15
b) Verteilung der Radioaktivität auf Lebergewebe und Pfortaderblut	15
c) Veraschungsmethode nach Kalberer und Rutschmann	16
d) Messung der Radioaktivität	20
Befunde	23
Zusammenfassung der Befunde	31
Diskussion	33
Zusammenfassung	41
Literaturverzeichnis	43

EINLEITUNG

Zunächst soll der Abbauweg der einzelnen Zucker skizziert werden:

a) Abbauege der Glucose

Der Intermediärstoffwechsel der Glucose ist am längsten bekannt. 1897 gelang es E. Buchner, aus Hefezellen einen zellfreien Extrakt zu gewinnen, der Zucker vergären konnte. Harden und Young fanden 1905, daß sich bei der Vergärung durch diesen Preßsaft Phosphorsäureester der Glucose anhäuften. 1912 stellte Neuberg das erste Gärungsschema auf. Wesentliche weitere Beiträge wurden von G. Embden und O. Meyerhof geleistet.

Meyerhof fand in der Hefe das Enzym Hexokinase, welche den Glucose-stoffwechsel einleitet, indem sie die Glucose in Glucose-6-phosphat überführt. Die Phosphorsäure stammt aus ATP. Das Glucose-6-phosphat kann dann entweder als Glycogen gespeichert oder sofort abgebaut werden. Zum Einbau der Glucose in das Glycogen ist eine Transphosphorylierung des Glucose-6-phosphats in Glucose-1-phosphat notwendig. Nach seinen Entdeckern C. F. Cori und G. T. Cori wird Glucose-1-phosphat auch als Cori-Ester bezeichnet. In Gegenwart von Phosphorylase bildet sich aus Cori-Ester Glycogen, indem anorganisches Phosphat freigesetzt wird und Glucose-moleküle sich an C_1 bzw. C_4 glycosidisch binden.

Zum weiteren Abbau des Glucose-6-phosphats ist eine Umwandlung in das entsprechende isomere Fructosephosphat (Neuberg-Ester) notwendig. Diese Reaktion wird durch die Phosphohexoisomerase bewirkt, die 1933 von Lohmann (1) beschrieben wurde. Das von Harden und Young entdeckte Fructose-1, 6-diphosphat ist der nächste Schritt beim Abbau der Glucose. Die Phosphorsäure dazu wird wieder von ATP geliefert. Durch das Enzym Aldolase wird das Fructose-1, 6-diphosphat in Triosephosphate, das Dihydroacetonphosphat und das 3-Phosphoglycerinaldehyd gespalten. Dieses Enzym wurde zuerst von Warburg und Christian (2) in kristalliner Form dargestellt. Alle diese Reaktionen sind umkehrbar, so daß aus Triosen wieder Glycogen synthetisiert werden kann. Auch Dihydroacetonphosphat und 3-Phosphoglycerinaldehyd können ineinander übergehen, wobei das Gleichgewicht dieser Triose-isomerasereaktion zu 96 % nach der Seite des Dihydroacetonphosphats verschoben ist. Das entsprechende Enzym ist von Bücher (3) in kristalliner Form dargestellt worden.

Das Dihydroacetonphosphat wird durch die Glycerophosphatdehydrogenase zu Δ -Glycerophosphat reduziert. Dieses wird in Glycerin und

Phosphorsäure aufgespalten, und das Glycerin mündet in den Fettstoffwechsel ein. Es wäre zu erwarten, daß das Gleichgewicht vorwiegend auf der Seite der Dihydroacetonphosphatderivate liegen würde, da Glucose vorwiegend aus Dihydroacetonphosphat gebildet wird. Das 3-Phosphoglycerinaldehyd wird jedoch so schnell umgesetzt, daß zur Aufrechterhaltung des Gleichgewichts immer neues 3-Phosphoglycerinaldehyd aus Dihydroacetonphosphat gebildet werden muß.

Im nachfolgenden Schritt wird 3-Phosphoglycerinaldehyd dehydriert und nimmt anorganischen Phosphor auf. Das aufgenommene Orthophosphat wird an ADP weitergegeben und damit eine energiereiche Phosphatverbindung geschaffen. Diese Transphosphorylierung wird durch die Phosphoglycerinsäure-Kinase vollzogen. Bücher stellte auch dieses Enzym in kristalliner Form dar (4). Die so entstandene 3-Phosphoglycerinsäure wird durch intramolekulare Verschiebung in 2-Phosphoglycerinsäure übergeführt. Das hier wirkende Enzym ist die Phosphoglyceromutase.

Durch die Enolase wird ein Wassermolekül abgespalten, und es entsteht Phosphoenolbrenztraubensäure. Schließlich wird die Phosphoenolbrenztraubensäure dephosphoryliert. Dabei entstehen wieder energiereiche Phosphatverbindungen. Die Brenztraubensäure kann nun unter anaeroben Bedingungen weiter zu Milchsäure abgebaut werden (im Muskel), in den aeroben Zitronensäurecyclus einmünden oder zu Alanin oder Asparaginsäure aminiert werden und wird damit ein Baustein der endogenen Aminosäurebildung.

b) Abbauege der Fructose

Der Fructosestoffwechsel verläuft anfangs in anderen Bahnen; er spielt sich hauptsächlich in der Leber ab. Auf gleichen Wegen scheint er in der Niere und Darmschleimhaut abzulaufen. Wie Leuthardt und Testa (5, 6) zeigen konnten, ist in der Leber ein Enzym vorhanden, das Fructose zu Fructose-1-phosphat phosphoryliert. Gegen Fructose-6-phosphat ist dieses Enzym inaktiv, doch werden auch andere Ketosen wie L-Sorbose u. a. am C1 phosphoryliert. Deshalb wurde das Enzym als Ketokinase bezeichnet. Seinen optimalen Wirkungsgrad hat dieses Enzym bei einem pH-Wert zwischen 5,5 und 8 und außerdem bei Anwesenheit von Magnesium- und Kaliumionen. Zur Phosphorylierung ist außerdem ATP notwendig. Fructose-1-phosphat konnte von verschiedenen Autoren (6, 7, 8, 9) nach Fructosebelastung bzw. Inkubation mit gereinigten Enzympräparaten in Darm, Schleimhaut, Muskel und Leberbrei nachgewiesen werden. In der Niere

konnte Hers (10) ebenfalls eine Fructokinase nachweisen.

In der Leber von Rattenfoeten und neugeborenen Ratten konnte keine Fructokinase gefunden werden (11). Erst 30 Tage nach der Geburt nahm sie Normalwerte an. Kuyper (11), Fitch (12) u. a. konnten andererseits bei älteren Tieren eine adaptive Mehrbildung der Fructokinase nach fructose-reicher Diät feststellen. Hill u. a. (13, 14) stellten sogar neben der erhöhten Fructokinaseaktivität eine verminderte Glucoseverwertung bei fructosereicher Diät an Ratten fest, die auch durch Insulingaben nicht wieder verbessert werden konnte. Das gleiche beobachteten sie beim Menschen. Die Pathogenese dieser Glucoseverwertungsstörung konnte bisher nicht gefunden werden.

Die Hexokinasen aus Muskel, Herz und Gehirn konnten noch nicht rein dargestellt werden. Es scheint jedoch, daß die Hexokinasen im Gehirn und Muskel einen ähnlichen breiten Wirkungsbereich haben wie die Hefehexokinasen, die außer Glucose auch Fructose phosphorylieren. Das Herz (Schweineherz) dagegen enthält nur Glucokinase (Cori); dieses Organ vermag daher keine Fructose zu verwerten. Die Aktivität der Hexokinase im Muskel und Gehirn gegen Fructose ist jedoch gering, so daß bei genügendem Glucoseangebot die Phosphorylierung der Fructose durch die Glucose vollständig gehemmt wird (15). Beloff-Chain (16) und Larsson (17) konnten nachweisen, daß der Fructosestoffwechsel im Gehirn dem der Glucose gleicht, jedoch wird Fructose im Vergleich zur Glucose weniger rasch verwertet.

Die Aldolase spaltet Fructose-1-phosphat in Dihydroacetonphosphat und D-Glycerinaldehyd. Diese Reaktion haben unabhängig voneinander Hers und Kusaka (18) sowie Leuthardt, Testa und Wolf (19) beschrieben. Leuthardt und seine Mitarbeiter haben das Enzym weitgehend gereinigt. Peanasky und Lardy (20) konnten aus Rinderleber eine Aldolase in kristalliner Form herstellen, die sowohl Fructose-1,6-diphosphat als auch Fructose-1-phosphat spaltet. Für Fructose-1-phosphat wurde eine Aktivität von 42 % gegenüber Fructose-1,6-diphosphat gefunden. Auch die Muskelaldolase spaltet beide Fructosephosphate; jedoch ist die Spaltungsgeschwindigkeit für Fructose-1-phosphat nur 1/10 der für Fructose-1,6-diphosphat (21, 22). Daraus geht hervor, daß in der Leber eine auf Fructose-1-phosphat spezifische Aldolase vorkommt, aber auch ein Enzym existiert, das sowohl Fructose-1,6-diphosphat wie auch Fructose-1-phosphat spaltet.

Wolf und Leuthardt (23) konnten eine Spaltung von Fructose-1-phosphat in der Niere nachweisen, und Schapira (24) fand im Darm eine Aldolase mit ähnlichen Eigenschaften wie die Leberaldolase.

Der Stoffwechsel des Dihydroacetonphosphats wurde schon bei der Glucose besprochen.

Für die Verwertung von D-Glycerinaldehyd kommen drei Möglichkeiten in Frage:

1. die Reduktion des D-Glycerinaldehyds zu Glycerin
2. die Oxydation des D-Glycerinaldehyds zu D-Glycerinsäure
3. die Phosphorylierung des D-Glycerinaldehyds.

Zu 1.: Leuthardt und Wolf (25, 26) haben aus der Leber eine Glycerindehydrogenase angereichert, die Glycerinaldehyd zu Glycerin reduziert. Holzer und Schneider (27, 28) zeigten die Identität mit der Alkoholdehydrogenase in der Leber.

Das Glycerin kann nun durch eine L-Triokinase, die außer Glycerin auch 1-Glycerinaldehyd und Dihydroxyaceton phosphoryliert, zu Glycerin-1-phosphat umgewandelt werden. Dieses kann dann über das Dihydroacetonphosphat wie oben beschrieben weiter glycolytisch abgebaut werden.

Zu 2.: Lamprecht und Heinz (29) fanden, daß aus D-Glycerinaldehyd mit katalytischen Mengen von NAD (Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid) durch Aldehyddehydrogenase außer L-Glycerinphosphat über Glycerin als Zwischenstufe auch D-Glycerinsäure gebildet wird. Das Gleichgewicht der Oxydationsreaktion liegt auf der Seite der D-Glycerinsäure. Außer D-Glycerinaldehyd werden eine Anzahl weiterer Aldehyde von diesem Enzym oxydiert. Lamprecht und Heinz (30) stellten außerdem fest, daß ein Teil der Aldehyddehydrogenase in den Mitochondrien lokalisiert ist. Aus dem gleichen Arbeitskreis, von Rauschenbach und Lamprecht (70), wurde mit Hilfe $1\text{-}^{14}\text{C}$, $6\text{-}^{14}\text{C}$ sowie $1,6\text{-}^{14}\text{C}$ markierter Fructose der weitere Weg der D-Glycerinsäure verfolgt. Anhand der Isotopenverteilung im Glycogen konnten sie beweisen, daß D-Glycerat über 2-Phospho-D-Glycerat, 3-Phospho-D-Glycerat und 1,3-Diphospho-D-Glycerat zu 3-Phospho-D-Glycerinaldehyd umgesetzt wird und dann durch Kondensation der Triosephosphate Glycogen gebildet wird. Das 2-Phospho-D-Glycerat kann, wie bei der Glucose beschrieben, durch die Enolase unter Wasserabspaltung in Phosphoenolbrenztraubensäure umgesetzt werden. Nach Dephosphorylierung wird die Brenztraubensäure in den Zitronensäurecyclus einbezogen.

Zu 3.: Hers (10) und Kusaka (18) haben aus Lebercytoplasma eine Enzymfraktion isoliert, welche D-Glycerinaldehyd und Dihydroxyaceton

phosphoryliert. Das Enzym "Triokinase" wurde von Lamprecht und Heinz (31) aus Rinderleber 50-fach angereichert. Sie identifizierten die Reaktionsprodukte als D-Glycerinaldehyd-3-phosphat bei der Phosphorylierung von D-Glycerinaldehyd und als Dehydroacetonphosphat bei der Phosphorylierung von Dihydroxyaceton. L-Glycerinaldehyd wurde ebenso wie Glycerin, Glycoaldehyd, Fructose und Glucose nicht phosphoryliert. Die Phosphorylierung des Glycerinaldehyds in der Niere wird von Lindberg (32) angegeben. Als Phosphatdonator dient ATP.

Die Frage, welcher dieser drei möglichen Abbauewege im lebenden Organismus besritten wird, wurde ebenfalls von Rauschenbach und Lamprecht (70) beantwortet. Auf Grund der Isotopenverteilung im Leberglycogen konnten sie die reduktive Umsetzung von D-Glycerinaldehyd mit Hilfe von D-Glycerinaldehyddehydrogenase in Glycerin ausschließen. Ebenso ist in der Leber die Phosphorylierung von D-Glycerinaldehyd mit ATP und Triokinase ohne Bedeutung. Die Hauptrolle spielt also Punkt 2: Das aus der Fructose gebildete D-Glycerinaldehyd wird hauptsächlich über D-Glycerinsäure zu Glycogen kondensiert oder dem Zitronensäurecyclus zugeführt.

c) Umwandlung der Fructose in Glucose und Glycogen in der Leber, Niere und im Darm

Der Einbau von Fructose in das Glycogen ist von Pflüger (33) 1907 zuerst beschrieben worden. Cori u. a. (34) fanden bei der Inkubation von Leberschnitten keine Abnahme des total vergärbaren Zuckers; die verschwundene Fructose war vollständig in Glucose umgewandelt worden. Zu dem gleichen Ergebnis kam Chaikoff (35) mit markierter Fructose. Leuthardt und Hers (36, 10) konnten den Umwandlungsmechanismus der Fructose in Glucose klären. Rauschenbach und Lamprecht (70) bewiesen mit Hilfe der Isotopenverteilung im Glycogen aus markierter Fructose die Umwandlung über Triosen.

Fructose wird, wie vorher beschrieben, zunächst zu Fructose-1-phosphat phosphoryliert und durch Aldolase in D-Glycerinaldehyd und Dihydroacetonphosphat gespalten. Durch Isomerierung kann aus Dihydroacetonphosphat 3-Phosphoglycerinaldehyd entstehen. Dieses kondensiert mit Dihydroacetonphosphat und bildet so Fructose-1, 6-diphosphat. Auch das andere Stoffwechselprodukt D-Glycerinaldehyd kann durch Umwandlung (s. o.) in 3-Phosphoglycerinaldehyd in Fructose-1, 6-diphosphat eingebaut werden. Fructose-1, 6-diphosphatase spaltet den Phosphatrest am Kohlenstoffatom 1 ab, und es entsteht Fructose-6-phosphat. Dieses wird durch Phosphoglucose-Isomerase in Glucose-6-phosphat übergeführt. Auch Hers (10, 36) untersuchte die Stoffwechselwege mit ^{14}C markierter Fructose.

Er fand, daß bei Belastung mit Fructose-1-, bzw. -6- ^{14}C der Hauptanteil der Radioaktivität am Kohlenstoffatom 1 und 6 der Glucosemoleküle wieder erschien. Im Vergleich dazu erschien bei Belastung mit Glucose-1- ^{14}C praktisch die gesamte Aktivität am Kohlenstoffatom 1 der Glucoseeinheiten des Glycogens.

Die quantitativen Angaben über eine Umwandlung von Fructose in Glucose schwanken stark. Cori (34) und Chernick (35) beobachteten einen quantitativen Übergang an Rattenleberschnitten. Auch Perfusionen von Katzen- und Rattenlebern brachten ähnliche Ergebnisse. Im Gegensatz zu diesen in vitro gemachten Versuchen stehen die Befunde am Ganztier und am Menschen. Würde beim Diabetiker die gesamte Fructose in Glucose umgewandelt, so wäre die bekannte gute Verträglichkeit dieses Zuckers nicht zu beobachten. Ebenso zeigte eine i. v. Belastung mit Fructose eine schnelle Abnahme der Fructosekonzentration im Blut, aber nie einen entsprechend hohen Anstieg der Blutglucose (37, 38, 39 u. a.). Cori und Cori (40) gaben bei der Ratte eine Umwandlung von 38 % der vom Darm resorbierten Fructose in Glycogen an. Obwohl die Glucose schneller resorbiert wird, fanden sie davon nur 7 % im Glycogen eingebaut. Worauf der Unterschied der Fructoseverwertung in vitro und in vivo basiert, konnte noch nicht festgestellt werden.

Außer in der Leber kommt es auch im Darm zu einer Umwandlung der Fructose in Glucose (40, 41, 42, 43). Ginsburg (44) konnte mit markierter Fructose am Goldhamsterdarm zeigen, daß auch hier die Umwandlung von Fructose in Glucose über Triosen verläuft. Dabei wurde auch die theoretisch geforderte Isotopenverteilung von je 50 % ^{14}C am Kohlenstoffatom 1 und 6 beobachtet.

Die rasche Verwertung der Fructose im Organismus ist im Vergleich zur Glucose besonders auffällig. Obwohl die Fructose langsamer und nicht aktiv resorbiert wird (45, 46), steigt der Respirationsquotient nach Fructosebelastung rasch an (47). Die Fructosekonzentration sinkt bei intravenöser Infusion nach anfänglich hohen Werten wieder schnell ab (37, 38) und dafür treten Dreikohlenstoffverbindungen vermehrt im Blut auf, 1912 beobachtete Oppenheimer (48) bei Leberdurchströmungen mit Fructose einen Anstieg der Milchsäure in der Perfusionsflüssigkeit. Dieses Ergebnis wurde auch im Tierversuch und beim Menschen von vielen Autoren bestätigt (49, 50, 51, 37, 47). Außer einem schnellen Abbau der Fructose zu Brenztraubensäure und Milchsäure wurde auch eine vermehrte Bildung von aktivierter Essigsäure beobachtet (51). Beim Hungerdiabetes (Ratte) steigen nach oraler Ver-

abreichung von Fructose die abgefallenen Konzentrationen von Brenztraubensäure, Dihydroacetonphosphat und Fructose-1,6-diphosphat über den Normalwert an.

Die Leber besitzt also die Fähigkeit, Fructose schnell zu verwerten. Je nach Stoffwechsellage wird dabei vermehrt Milchsäure (Glycolyse) oder Glycogen gebildet. Fructose wird im Gegensatz zur Glucose ohne regulativen Einfluß von Insulin verwertet. Einen Überblick über den Glucose- und Fructoseabbau gibt Abb. 1 wieder.

d) Abbauwege der Saccharose

Die Saccharose wird nicht, wie lange angenommen, im Darmlumen in ihre Monosaccharide gespalten. Miller und Crane (43) sowie Fridhandler und Quastel (52) brachten bei in vitro Versuchen den Beweis, daß die Hydrolyse der Saccharose in den Epithelzellen stattfindet. Durch Abschilferung und Zerstörung des Epithels gelangen jedoch auch Enzyme in das Darmlumen. Die Saccharose kann theoretisch sowohl durch die α -Glucosidase, als auch durch Saccharase gespalten werden, je nachdem an welchem glycosidischen C-Atom die Enzyme angreifen. Die Glucosidase (Maltase) greift alle α -Glucoside an, so auch Maltose. Die Saccharase ist nur in Pflanzen und Mikroorganismen gefunden worden und scheint beim Tier zu fehlen (53). Nach der Hydrolyse werden die Monosaccharide Fructose und Glucose, wie vorher beschrieben, abgebaut.

e) Abbauwege der Galaktose

Die Galaktose muß, bevor sie verwertet werden kann, wie Glucose erst in einen Phosphorsäureester übergeführt werden. In Gegenwart von ATP wird sie durch Galaktokinase zu Galaktose-1-phosphat phosphoryliert. Das Galaktose-1-phosphat wurde von Kosterlitz (54) 1937 isoliert. Durch Phosphogalaktoisomerase wird Galaktose-1-phosphat in Glucose-1-phosphat umgewandelt (55). Das dazu benötigte Coenzym wurde von den gleichen Autoren entdeckt (56); es besteht aus Glucose-1-phosphat und Uridin-5-phosphat. Die beiden Moleküle werden durch eine Pyrophosphatverbindung vereinigt, wobei Uridinphosphat-Glucose (UDPG) entsteht. Das Glucose-1-phosphatmolekül am Uridindiphosphat wird gegen ein Galaktose-1-phosphatmolekül ausgetauscht, so daß Uridindiphosphatgalaktose entsteht. Die Galaktose muß bei dieser Reaktion durch die Phosphogalaktose-Isomerase in Glucose übergeführt werden und kann dann vom Uridin-5-phosphat als Glucose-1-phosphat abdissoziiert werden. Über den Mechanismus der Isomerierung ist noch nichts Genaues bekannt. Das Glucose-1-phosphat läuft dann den bekannten Stoff-

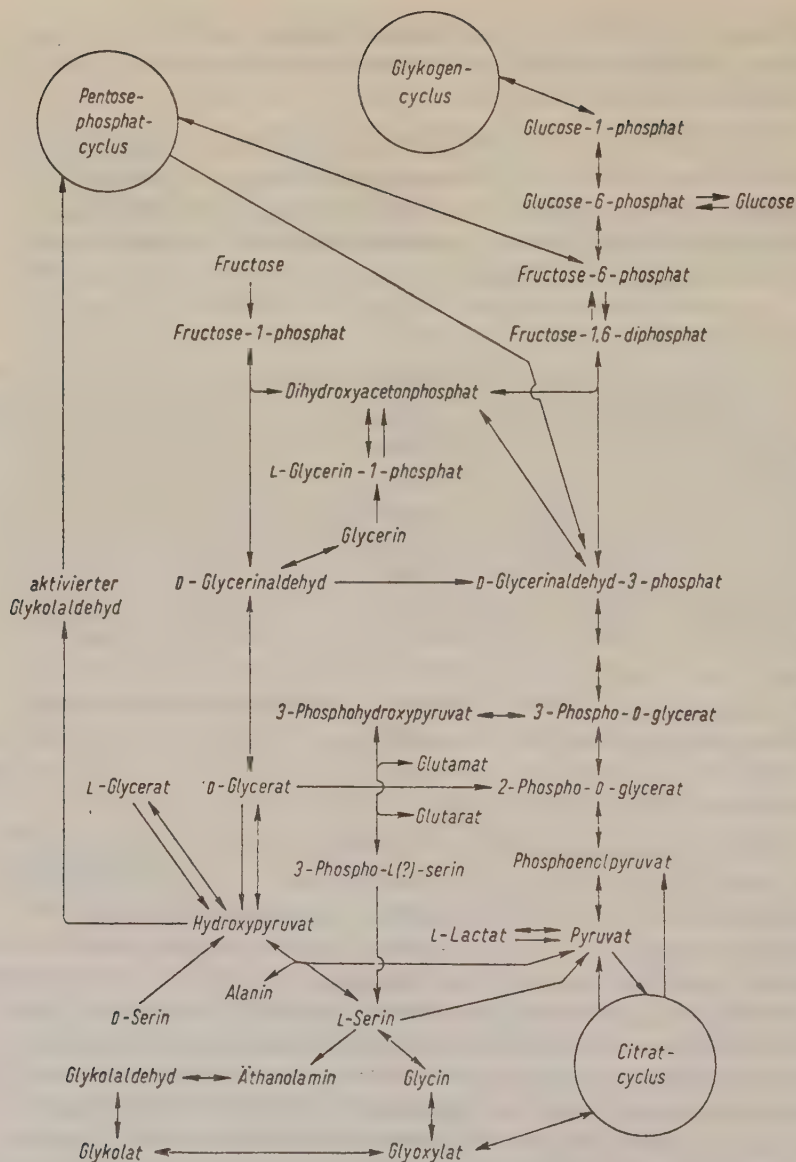


Abb. 1

Übersicht des Glucose- und Fructoseabbaus

(aus einer Arbeit von Heinz, Bartelsen und Lamprecht)

wechselweg.

f) Abbauege der Lactose

Die Lactose muß wie die Saccharose erst in ihre Monosaccharide gespalten werden. Nur Spuren oral verabreichter Lactose erscheinen als solche im Blut, werden also ungespalten resorbiert (etwa 1 g). 85,5 bis 94 % parenteral verabreichter Lactose erscheinen unverändert im Harn (71). Die Spaltung der Lactose geschieht durch die Lactase oder Galaktosidase. Ihre Aktivität ist nicht sehr hoch. Galaktose und Glucose werden wie oben beschrieben in die Stoffwechselprozesse einbezogen.

AUFGABENSTELLUNG

Wir haben uns die Aufgabe gestellt zu untersuchen, inwieweit sich die verschiedenen Zucker beim Vorgang der Resorption gegenseitig beeinflussen, indem wir ihre Resorption anhand der Einbaurrate in die Leber mit Hilfe radioaktiver Zucker untersuchten.

a) Gewinnung des biologischen Materials

An Ratten wurde nach 6-stündigem Hungern per Schlundsonde jeweils $5 \mu\text{C}$ eines ^{14}C -markierten Zuckers zusammen mit 90 mg inaktiven Zuckers in den jeweils unten angegebenen Mischungsverhältnissen verabreicht. Die Zucker wurden jeweils in je 1/2 ml Wasser gelöst. Das Gewicht der markierten Substanz konnte gegenüber dem inaktiven Zusatz vernachlässigt werden, da die spezifische Aktivität derart hoch war, daß $5 \mu\text{C}$ 0,29 mg Substanz nie überschritt. Zur Verwendung kamen Albinoratten, die mindestens 4 Tage lang mit einer Standardkost gefüttert waren und ein Durchschnittsgewicht von 120 - 160 g hatten. 10 Minuten nach der Zuckergabe wurden die Ratten dekapitiert, die Leber schnell freipräpariert und durch Pfortaderpunktion mit eisgekühlter isotoner Kaliumchloridlösung gespült. Anschließend wurde die Leber im Vakuumtrockenschrank bei 65°C 12 Stunden getrocknet und dann nach der Methode von Kalberer und Rutschmann (57) verascht. Die Radioaktivität wurde in einem Flüssigkeits-Scintillations-Zähler (Fa. Packard-Instr., Modell 314 EX) gemessen.

b) Verteilung der Radioaktivität auf Lebergewebe und Pfortaderblut

Die Durchspülung der Leber mit isotoner KCl-Lösung wurde vorgenommen, um eine unterschiedliche Füllung der Leber mit Blut, verursacht durch Kollaps und hervorgerufen durch den Stress vor der Dekapitation oder durch unterschiedliches Ausbluten, zu vermeiden. Vergleichende Serien hatten gezeigt, daß die Streuung bei nicht leer gespülten Lebern weitaus größer war. Mit der Spülung wurde in Kauf genommen, daß ein Teil der Aktivität wieder ausgespült wurde. Es wurde festgestellt, daß das Verhältnis der Radioaktivität zwischen Pfortaderblut und dem im Perfusat befindlichen Blut etwa 1 : 25 beträgt. Daraus läßt sich schließen, daß ein bestimmter Anteil radioaktiver Substanz aus dem perivaskulären und interstitiellen Gewebe ausgespült wurde, während die Leberzellen wahrscheinlich von dem Spülvorgang unberührt bleiben (siehe Tab. 1). Auch der gleichmäßige Blutgehalt des Perfusats läßt auf eine ziemlich vollständige Entblutung der Leber schließen.

Tab. 1

Nr.	% Blut im Perfusat gemessen als Hb (g)	Verhältnis der Radioaktivität Pfortaderblut/Perfusatblut
1	2,78	1 : 25
2	2,15	1 : 24
3	2,0	1 : 34
4	2,31	1 : 16
	2,285	1 : 24,75

Der Blutgehalt im Pfortaderblut und im Perfusat wurde nach der Cyanhämglobin-Methode im Photometer "Eppendorf" bei der Wellenlänge von 546 nm gemessen (58). Zur Umwandlung des Hämoglobins in das Cyanhämglobin wurden je 0,05 ml Pfortaderblut der Ratten mit 12,5 ml Lösung, bestehend aus 1,00 g Natriumkarbonat, 200 mg Kaliumferricyanid und 50 mg Kaliumcyanid in 1000 ml dest. Wasser gelöst, versetzt. Nach 20 Minuten ist die Umwandlung beendet, worauf das Cyanhämglobin gemessen werden kann. Die Extinktion ist proportional der Konzentration des Cyanhämglobins. Mit Hilfe eines Proportionalitätsfaktors läßt sich eine Eichkurve aufstellen, an welcher der Hämoglobingehalt direkt abgelesen werden kann.

Die Radioaktivität des Blutes und des Perfusats wurde nach der weiter unten beschriebenen Veraschungsmethode bestimmt, indem 0,05 ml Blut, bzw. 0,1 ml Perfusat auf eine Filterschleimtablette gebracht, getrocknet und verascht wurde. Anschließend wurde, wie später beschrieben, die Radioaktivität der Proben mit dem Flüssigkeits-Scintillations-Zähler bestimmt.

c) Veraschungsmethode nach Kalberer und Rutschmann

Um den weichen β -Strahler Kohlenstoff- ^{14}C im Scintillations-Zähler messen zu können, müssen die organischen Verbindungen in eine lösliche oder suspensionsfähige Form gebracht werden. Eine Suspension eignet sich weniger, da sie je nach Verteilungsgrad, Größe und Farbe die Zählzählbeute unterschiedlich beeinflusst und jede Probe eine nochmalige Messung erfordert, indem man einen Standard mit bekannter spezifischer Aktivität jeder Probe zusetzt und deren Zählzählbeute mißt. Dieser sogenannte "innere Standard" ist bei der Veraschungsmethode nicht notwendig, weil durch sie

das gesamte organisch gebundene ^{14}C in $^{14}\text{CO}_2$ übergeführt wird. Eingeführt wurde die Methode von Schöninger (59) für Halogen- und Schwefelverbindungen, von Götte (60) für die ^{14}C -Bestimmung und von Habersbergerova-Jenickora (61) für die Analyse von ^{35}S -markierten Substanzen. Das Prinzip dieser Methode beruht darauf, daß das durch die Verbrennung entstandene $^{14}\text{CO}_2$ von einer organischen Base aufgefangen wird und dann in gelöster Form direkt gewährt werden kann. Dadurch wird gewährleistet, daß das ^{14}C immer in derselben chemischen Verbindung vorliegt und damit der "quenching effect" (Löscheffekt) gleichbleibt. Außer bei Stichproben ist folglich eine Messung mit innerem Standard überflüssig.

Voraussetzung für die Veraschung ist, daß man in einem abgeschlossenen System arbeitet. Im Gegensatz zur Methode von Hempel (62), bei der die Scintillationslösung zusammen mit der organischen Base nach der Verbrennung in einen Erlenmeyerkolben eingesaugt wird, bietet die Methode von Kalberer und Rutschmann den Vorteil, daß die organische Base schon vor der Verbrennung in den Kolben eingebracht wurde und damit die Proben in Gegenwart des Absorptionsmittels verbrennen. Daß die methanolische Absorptionslösung nicht mitverbrennt, wird dadurch verhindert, daß sie vor der Verbrennung mit einem Trockeneis-Aceton-Gemisch gekühlt wird. Dadurch wird der Dampfdruck des Methanols so weit herabgesetzt, daß es sich bei der Verbrennung nicht antzündet. Die Absorptionslösung befindet sich bei diesem Vorgang in einer dem Einliter-Kolben angeschmolzenen Nase (s. Abb. 2 auf S. 18), die in ein Dewargefäß mit Aceton-Trockeneis-Gemisch (ca. -70°C) gehängt wird.

Zur Verwendung kamen Einliter-Pyrex-Rundkolben mit einem Normalschliff. An den Stopfen ist ein Platinnetz angeschmolzen, welches als Träger für die Verbrennung der Organprobe dient (s. Abb. 3a). Ein Filtrierpapier wird, wie Abb. 3b zeigt, vorgefaltet und das Analysenmaterial eingewogen. Dann wird das Trägerpapier zu einem Paket zusammengefaltet (s. Abb. 3c). Der überstehende Papierstreifen dient als Lunte. Die verpackte Organprobe wird in das U-förmig gebogene Platinnetz geschoben und durch Zusammen-drücken des Netzes befestigt (s. Abb. 3d).

Für die flüssigen Proben werden Filterschleimtabletten von $2 \times 2 \text{ cm}$ verwendet, auf die Blut bzw. Perfusat aufpipettiert wird. Nach der Trocknung werden die Filterschleimtabletten auf die gleiche Weise auf dem Platinnetz befestigt und mit einer Filtrierpapierlunte gezündet.

Filtrierpapier und Filterschleimtabletten wurden in den benötigten Größen von Schleicher & Schüll AG, Feldmeilen/Zürich, bezogen (Nr. 589/2 bzw. Nr. 292, $2 \times 2 \text{ cm}$).

Abb. 2

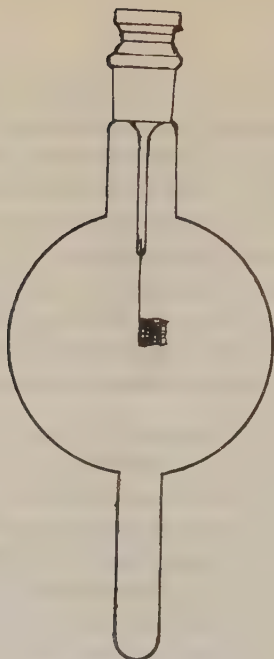
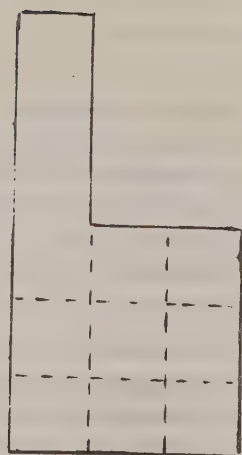


Abb. 3



a



b



c



d

Als Absorptionsmittel wurde Äthanolamin in methanolischer Lösung verwendet. Das Verhältnis Äthanolamin zu Methanol betrug 120 : 880 (v/v). Eine höhere Konzentration an Äthanolamin ist mit dem Toluol-Scintillator nicht mehr mischbar und fällt aus (Prinzip des Scintillators s. S. 20).

In den Kolbenfinger werden 11 ml Äthanolamin-Methanol-Gemisch pipettiert. Das Äthanolamin bindet als organische Base das $^{14}\text{CO}_2$ und muß, um eine quantitative Absorption zu gewährleisten, immer im Überschuß bleiben. 11 ml Äthanolamin-Methanol-Gemisch können $^{14}\text{CO}_2$ und CO_2 aus 160 - 170 mg Gewebe bzw. Blut inklusive Filterpapier aufnehmen. Das Papier wiegt ca. 120 - 130 mg; die Differenz von 30 - 40 mg kann demnach an Organgewicht als Trockensubstanz eingesetzt werden.

Die Kolben werden in eine Schüttelmaschine geklemmt, das Äthanolamin-Methanol-Gemisch gekühlt und die Organprobe im Platinnetz befestigt. Dann werden die Kolben mit Sauerstoff gründlich gespült, der Schliff des Stopfens zum Abdichten während der Verbrennung und der Absorption mit einem dünnen Wasserfilm versehen, die Lunte gezündet und der Stopfen sofort in den Kolben gesteckt. Der Stopfen wird sofort mit Zugfedern gesichert, damit bei dem entstehenden Überdruck kein Gas entweichen kann. Erst nachdem die Temperatur des Platinnetzes unter der Entzündungstemperatur des Methanols liegt, was erfahrungsgemäß nach etwa 3 Minuten der Fall ist, wird das Kühlmittel entfernt und dann der Kolben etwa 30 Minuten mit der Maschine geschüttelt.

Anschließend werden Aliquote von je 10 ml Absorptionsmittel und 10 ml Toluol-Scintillator in ein Zählglas pipettiert. Eine Meßreihe mit aufsteigenden Methanol-Äthanolamin-Konzentrationen und absteigenden Toluol-Scintillator-Konzentrationen zeigte, daß die beste Zählausebeute bei dem Verhältnis 1 : 1 liegt (s. Tab. 2).

Tab. 2

Konkurrenz zwischen Aliquoterhöhung und Löscheffekterhöhung.
 Probenzusammen: 0,15 ml H₂O + inneren Standard ($8,58 \times 10^4$ dpm/ml)
 + 12 %iges Methanol-Äthanolamin + Toluol-Scintillator.

Nr.	Standard (ml)	12 %iges Äthanol Methanol (ml)	Toluol- Scintill.	ipm (Mittel- wert)
1	0,05	5	15	2432
2	0,06	6	14	2918
3	0,07	7	13	3219
4	0,08	8	12	3666
5	0,09	9	11	3746
6	0,10	10	10	3837
7	0,11	11	9	3667
8	0,12	12	8	3540

Der Toluol-Scintillator wurde hergestellt aus 5 g PPO (2,5 Diphenyl-oxazol) und 0,3 g POPOP (1,4-bis-(5-phenyloxazolyl)-(2)-benzol) in 1 l Toluol. PPO und POPOP wurden von der Fa. "Packard Instruments Company, Inc.", Lagrange, Ill., USA, bezogen.

d) Messung der Radioaktivität

Nachdem die Proben eine halbe Stunde zur Kühlung in den automatischen Probenwechsler der Zählapparatur eingesetzt waren, konnte die Zählung begonnen werden. Sie wurde bei $+10^{\circ}\text{C}$ ausgeführt. Dafür stand ein Flüssigkeits-Scintillations-Zähler der Fa. Packard, "Tri Carb Modell 314 EX" zur Verfügung.

Das Prinzip des Scintillations-Zählers beruht darauf, daß durch die β -Strahlung aus ^{14}C im Scintillator ein Lichtblitz erzeugt wird. Je nach Strahlungsintensität wächst die Anzahl der Photonen. Die Energie der Photonen wird in elektrische Impulse umgewandelt. Sie sind der Zahl der ursprünglichen β -Teilchen proportional. Da die Zählausbeute von der Hochspannung des Gerätes am Photomultiplier und andererseits vom Scintillator abhängig ist, mußte das Gerät auf seinen "balance point" für jedes dieser Systeme geeicht werden. Im vorliegenden System lag er bei einer Hochspannungseinstellung von 6,6 und einer Diskriminatoreinstellung für den Energiebereich von ^{14}C bei A/B=1,00/8,00.

Jede Probe wurde dreimal 10 Minuten lang gemessen. Von diesen Meßergebnissen wurde der Mittelwert genommen und auf eine Minute bezogen. Ein Blindwert wurde jeweils mitgemessen. Er betrug im Mittel 40 - 45 ipm. Durch verschiedene Stichproben konnte gezeigt werden, daß die Zählausbeute im Bereich einer vertretbaren Schwankungsbreite blieb. Das Maximum der Zählausbeute lag bei 45,56 %, das Minimum bei 40,03 % bei über 250 Proben; der Mittelwert betrug 42,62 %.

Auch nach Einstellung des "balance point" wird nur ein bestimmter Teil der Radioaktivität erfaßt, der andere Teil geht im Löscheffekt des Systems unter. Um den wahren Gehalt einer Probe an $^{14}\text{CO}_2$ zu bestimmen, wurde eine bestimmte Menge "innerer Standard" von bekannter spezifischer Aktivität der Meßprobe zugegeben und diese dann nochmals gezählt. Die Prozentzahl der Ausbeute wird nach folgender Formel berechnet:

$$\% \text{ der Ausbeute} = \frac{M_2 - M_1}{I}$$

M_2 ist der Mittelwert der Impulsrate + innerem Standard (in ipm=relative Zählrate), M_1 der Mittelwert ohne inneren Standard (ipm) und I die bekannte Impulsrate (dpm = absolute Impulsrate) der Standardlösung. Der Nulleffekt kann bei M_2 und M_1 unberücksichtigt bleiben, da er in beiden Fällen gleich ist (Standardlösung der Fa. Packard).

Die Gesamtaktivität der Organproben mit innerer Standardmessung berechnet sich dann nach der Formel:

Gesamtaktivität/g Trockengewicht =

$$\frac{M_1 - L}{E} \cdot \frac{I}{M_2 - M_1} \cdot \frac{V_g}{V_a} = \frac{M_1 - L}{E} \cdot \frac{I}{M_2 - M_1} \cdot 1,1 \text{ (dpm/g)}$$

Dabei ist L = Leerwert, E = Einwaage an Trockensubstanz (g) und V_g/V_a das Verhältnis des Gesamtvolumens zum Aliquotvolumen.

Bei bekannter Zählausbeute wird die Berechnung einfacher:

$$\text{Gesamtaktivität/g Trockengewicht} = \frac{M_1 - L}{Z \cdot E} \cdot 100 \text{ (dpm/g)},$$

wobei Z die vorgegebene Zählausbeute ausgedrückt in Prozent bezogen auf das Aliquotvolumen ist. Bei der hier vorliegenden Zählausbeute für ^{14}C von

42,62 % ergibt sich folgende Formel:

$$Z = \frac{M_2 - M_1}{I} \cdot \frac{V_a}{V_g} = 42,62 \cdot 0,9 = 37,9$$

$$\text{Gesamtaktivität/g Trockengewicht} = \frac{M_1 - L}{E} \cdot 2,64 \text{ (dpm/g)}$$

BEFUNDE

Folgende radioaktive Zucker kamen in verschiedenen Mischungsverhältnissen zur Anwendung: Glucose-U (U = uniform ^{14}C markiert), Fructose-U, Saccharose-U, Galaktose-1- ^{14}C , Lactose-1- ^{14}C . Die entsprechenden Monosaccharide wurden in der ersten Versuchsreihe rein verabreicht, um Bezugswerte zu erhalten. Dann wurden die jeweiligen Monosaccharide, entsprechend den später untersuchten Disacchariden, im Verhältnis 1 : 1 gegeben, um die gleichen stöchiometrischen Verhältnisse wie im Disaccharid zu erhalten. Schließlich wurden die Mengenverhältnisse extrem abgewandelt, so daß 5 μC (0,1 - 0,2 mg) des einen Monosaccharids mit 90 mg "kalter" Substanz des entsprechenden anderen Monosaccharids den Ratten gegeben wurden. Diese Mischungsverhältnisse dienten dazu, geringe Beeinflussungen eventuell aufdecken zu können.

Die Einbaurate des ^{14}C in die Leber wird in Prozent der gegebenen Menge, bei einem mittleren Frischgewicht von 6 g einer Leber, berechnet. Hierbei entsprechen durchschnittlich 100 mg Trockengewicht einem Feuchtgewicht von 312 mg. Da bei der Auswertung immer auf 100 mg Trockengewicht bezogen wurde, muß die Zählrate bei einem durchschnittlichen Naßgewicht von 6 g einer Leber mit dem Faktor $6\,000 : 312 = 19,2$ multipliziert werden, um auf die gesamte Leber zu schließen. Der Prozentgehalt der gegebenen Radioaktivität einer Gesamtleber errechnet sich dann aus

$$\frac{\text{dpm}/100 \text{ mg (trocken)} \cdot 19,2 \cdot 100}{5 \text{ C}} =$$

$$\frac{\text{dpm}/100 \text{ mg (trocken)} \cdot 19,2}{1,1 \cdot 10^4 \text{ dpm}} = \frac{\text{dpm}/100 \text{ mg (trocken)}}{6,46 \cdot 10^3}$$

Serie Nr. 1

5 μ C Glucose, 90 mg kalte Glucose

Ratte Nr.	Probe Nr.	dpm/100 mg (trocken)	% der geg. Menge bezogen auf 100 mg (trocken)	% der geg. Menge bezogen auf die Gesamtleber (naß)
1	129	11 228	0,1011	1,742
	130	11 805	0,1063	1,830
2	131	12 909	0,1162	2,001
	132	13 356	0,1203	2,077
3	133	14 000	0,1261	2,170
	134	12 383	0,1115	1,920
		12 614	0,1136	1,955

Serie Nr. 2

5 μ C Glucose, 45 mg kalte Glucose, 45 mg kalte Fructose

Ratte Nr.	Probe Nr.	dpm/100 mg (trocken)	% der geg. Menge (bezogen auf 100 mg (trocken))	% der geg. Menge bezogen auf die Gesamtleber (naß)
1	136	17 359	0,1564	2,691
	137	16 625	0,1498	2,573
2	138	19 194	0,1729	2,920
	139	20 878	0,1880	3,236
3	140	12 399	0,1117	1,888
	141	13 539	0,1219	2,091
		16 832	0,1516	2,609

Serie Nr. 3

5 μ C Glucose, 90 mg kalte Fructose

Ratte Nr.	Probe Nr.	dpm/100 mg (trocken)	% der geg. Menge bezogen auf 100 mg (trocken)	% der geg. Menge bezogen auf die Gesamtleber (naß)
1	142	20 460	0,1843	3,170
	143	19 859	0,1789	3,078
2	144	19 677	0,1772	3,050
	188	20 287	0,1827	3,145
3	146	20 873	0,1880	3,236
	147	20 583	0,1828	3,145
		20 290	0,1828	3,145

Zwischen der Serie mit reiner Glucose und der Serie mit Glucose und Fructose im Verhältnis 1 : 1 besteht ein Unterschied der Einbaurrate radioaktiver Glucose in die Leber von 25,07 %, zwischen der letzteren und der Serie mit den extremen Mischungsverhältnissen von Glucose und Fructose ein Unterschied von 17,04 %. Der Gesamtunterschied zwischen dem Basiswert (bei dem den Ratten nur Glucose appliziert wurde) und dem Extremwert (Ergebnis der Serie mit den extremen Mischungsverhältnissen) besteht ein Unterschied von 37,84 %.

Serie Nr. 4

5 µC Fructose, 90 mg kalte Fructose

Ratte Nr.	Probe Nr.	dpm/100 mg (trocken)	% der geg. Menge bezogen auf 100 mg (trocken)	% der geg. Menge bezogen auf die Gesamtleber (naß)
1	170	3 667	0,0330	0,569
	171	4 741	0,0427	0,735
2	172	3 119	0,0281	0,484
	173	2 309	0,0208	0,358
3	174	4 810	0,0424	0,746
	175	3 933	0,0354	0,609
4	176	3 385	0,0305	0,525
	177	3 093	0,0279	0,479
5	178	4 649	0,0418	0,721
	179	3 842	0,0346	0,596
		3 754	0,0337	0,582

Serie Nr. 5

5 µC Fructose, 45 mg Fructose, 45 mg Glucose

Ratte Nr.	Probe Nr.	dpm/100 mg (trocken)	% der geg. Menge bezogen auf 100 mg (trocken)	% der geg. Menge bezogen auf die Gesamtleber (naß)
1	182	12 440	0,1121	1,929
	183	12 987	0,1170	2,013
2	184	14 969	0,1348	2,321
	185	11 981	0,1079	1,957
3	206	11 603	0,1045	1,799
	207	11 458	0,1032	1,776
4	208	13 435	0,1210	2,083
	209	13 254	0,1194	2,055
		12 766	0,1149	1,979

Serie Nr. 6

5 μ C Fructose, 90 mg kalte Glucose

Ratte Nr.	Probe Nr.	dpm/100 mg (trocken)	% der geg. Menge bezogen auf 100 mg (trocken)	% der geg. Menge bezogen auf die Gesamtleber (naß)
1	160	8 424	0,0759	1,306
	161	8 726	0,0786	1,353
2	162	10 536	0,0949	1,633
	163	10 571	0,0923	1,639
3	164	15 356	0,1383	2,381
	165	17 277	0,1556	2,678
4	202	11 895	0,1072	1,844
	203	11 909	0,1073	1,846
5	204	9 574	0,0863	1,484
	205	12 118	0,1091	1,879
		11 638	0,1048	1,804

Die Meßwerte der stöchiometrischen Mischung von Fructose und Glucose liegen um 70,4 % über den Meßwerten der reinen Fructose. Zwischen Basiswert und dem Extremwert wird die Differenz nicht wesentlich geändert (62,9 %), denn zwischen Serie 5 und 6 sinkt die Aktivität lediglich um 8,84 % ab.

Serie Nr. 7

5 μ C Saccharose, 90 mg kalte Saccharose

Ratte Nr.	Probe Nr.	dpm/100 mg (trocken)	% der geg. Menge bezogen auf 100 mg (trocken)	% der geg. Menge bezogen auf die Gesamtleber (naß)
1	190	5 278	0,0475	0,818
	191	4 574	0,0412	0,709
2	192	7 219	0,0650	1,119
	193	8 632	0,0776	1,338
3	194	10 856	0,0978	1,683
	195	10 652	0,0958	1,651
4	196	7 418	0,0668	1,150
	197	6 203	0,0588	0,962
5	198	5 827	0,0525	0,903
	199	7 555	0,0680	1,171
		7 421	0,0671	1,143

Serie Nr. 8

5 μ Galaktose, 90 mg kalte Galaktose

Ratte Nr.	Probe Nr.	dpm/100 mg (trocken)	% der geg. Menge bezogen auf 100 mg (trocken)	% der geg. Menge bezogen auf die Gesamtleber (naß)
1	210	18 019	0,1623	2,793
	211	19 349	0,1743	2,999
2	212	13 666	0,1231	2,118
	213	13 616	0,1227	2,111
3	262	17 563	0,1582	2,723
	215	17 283	0,1557	2,679
4	263	20 228	0,1822	3,136
	217	23 473	0,2115	3,639
5	218	28 403	0,2558	4,403
	219	29 486	0,2656	4,571
		20 108	0,1812	3,117

Serie 9 s. S. 29 !

Serie Nr. 10

5 μ C Galaktose, 90 mg Glucose

Ratte Nr.	Probe Nr.	dpm/100 mg (trocken)	% der geg. Menge bezogen auf 100 mg (trocken)	% der geg. Menge bezogen auf die Gesamtleber (naß)
1	265	4 718	0,0425	0,731
	266	5 603	0,0505	0,868
2	267	5 783	0,0520	0,897
	268	5 254	0,0473	0,814
3	269	8 045	0,0725	1,247
	270	8 015	0,0722	1,397
4	271	6 738	0,0670	1,045
		6 317	0,0569	0,979

Die Versuche mit reiner Galaktose und der Mischung Galaktose mit Glucose in stöchiometrischen Verhältnissen zeigen weitgehende Übereinstimmung (Differenz von 5,77 % zwischen Serie 8 und Serie 9). Dagegen fällt der Extremwert der Galaktose mit Glucose gegenüber Serie 8 (=68,58 %) und Serie 9 (=70,4 %) erheblich ab. Serie 9 s. S. 29 !

Bei den nun folgenden Serien mit ¹⁴C markierter Glucose und Galaktose als kalter Substanz wurde als Basiswert Serie Nr. 1 benutzt.

Serie Nr. 11

5 μ C Glucose, 45 mg Glucose, 45 mg Galaktose

Ratte Nr.	Probe Nr.	dpm/100 mg (trocken)	% der geg. Menge bezogen auf 100 mg (trocken)	% der geg. Menge bezogen auf die Gesamtleber (naß)
1	240	8 389	0,0756	1,302
	241	8 815	0,0794	1,356
2	242	11 674	0,1051	1,809
	243	11 536	0,1039	1,788
3	244	11 717	0,1055	1,816
	245	9 066	0,0816	1,406
4	246	19 521	0,1748	3,026
	247	15 723	0,1416	2,437
		12 056	0,1086	1,869

Serie Nr. 12

5 μ C Glucose, 90 mg kalte Galaktose

Ratte Nr.	Probe Nr.	dpm/100 mg (trocken)	% der geg. Menge bezogen auf 100 mg (trocken)	% der geg. Menge bezogen auf die Gesamtleber (naß)
1	250	7 968	0,0717	1,235
	251	8 521	0,0777	1,336
2	252	9 507	0,0856	1,474
	253	10 250	0,0923	1,589
3	254	12 808	0,1153	1,986
	255	11 449	0,1031	1,775
4	256	10 332	0,0931	1,602
	257	10 885	0,0980	1,687
		10 226	0,0921	1,585

Serie 1 und Serie 11 zeigen eine Übereinstimmung, die im Bereich der biologischen Fehlerbreite liegt (4,43 %). Verglichen mit Serie 1 und 11 der Glucose mit Galaktose zeigt die Serie 12 eine Abnahme von 18,92 %, bzw. 15,18 %. Im Vergleich zu den Serien mit ^{14}C markierter Glucose und kalter Fructose sinkt die Resorption bei Gabe markierter Glucose und kalter Galaktose wie vorher ab: Serie 2 zu Serie 11 um 28,37 % und Serie 3 zu Serie 12 um 49,61 %.

Serie Nr. 13

5 μ C Lactose, 90 mg Lactose

Ratte Nr.	Probe Nr.	dpm/100 mg (trocken)	% der geg. Menge bezogen auf 100 mg (trocken)	% der geg. Menge bezogen auf die Gesamtleber (naß)
1	275	2 706	0,0244	0,419
	276	3 122	0,0281	0,484
2	277	1 701	0,0153	0,264
	278	2 310	0,0208	0,273
3	279	2 364	0,0213	0,365
	280	2 519	0,0227	0,390
4	281	3 156	0,0284	0,489
	282	2 592	0,0234	0,402
		2 558	0,0231	0,387

Da die Lactose am Glucosemolekül markiert war, läßt sie sich nur mit Serie 11 (markierte Glucose mit kalter Glucose : kalter Galaktose = 1 : 1) vergleichen. Die Differenz beträgt 78,78 %.

Nachtrag zur Seite 27:

Serie Nr. 9

5 μ C Galaktose, 45 mg Galaktose, 45 mg Glucose

Ratte Nr.	Probe Nr.	dpm/100 mg (trocken)	% der geg. Menge bezogen auf 100 mg (trocken)	% der geg. Menge bezogen auf die Gesamtleber (naß)
1	220	20 771	0,1876	3,220
	221	21 663	0,1951	3,358
2	222	22 667	0,2042	3,514
	223	27 608	0,2481	4,280
3	224	17 145	0,1544	2,658
	225	18 841	0,1697	2,921
4	226	21 865	0,1969	3,389
	227	22 052	0,1986	3,418
5	228	20 261	0,1825	3,141
	229	20 532	0,1849	3,183
		21 340	0,1923	3,309

Zusammenfassung der Mittelwerte

Tab. Nr. 16

Serie Nr.	markierte Substanz ¹⁾	kalte Subst. (in mg)	dpm/100mg (trocken)	% der geg. Menge ²⁾
1	Glucose	90 Glucose	12 614	1,955
2	Glucose	45 Glucose		
		45 Fructose	16 832	2,609
3	Glucose	90 Fructose	20 290	3,145
4	Fructose	90 Fructose	3 754	0,582
5	Fructose	45 Fructose		
		45 Glucose	12 766	1,979
6	Fructose	90 Glucose	11 638	1,804
7	Saccharose	90 Sacchar.	7 421	1,143
8	Galaktose	90 Galaktose	20 108	3,117
9	Galaktose	45 Galaktose		
	-	45 Glucose	21 340	3,308
10	Galaktose	90 Glucose	6 317	0,979
11	Glucose	45 Glucose		
		45 Galaktose	12 056	1,869
12	Glucose	90 Galaktose	10 226	1,585
13	Lactose	90 Lactose	2 558	0,387

1) Von der markierten Substanz wurden immer 5μ Curie = $11,1 \cdot 10^6$ dpm verabreicht.

2) Die gemessenen Prozente der gegebenen Menge markierter Substanz wurden auf ein durchschnittliches Naßgewicht der Leber von 6 g bezogen.

ZUSAMMENFASSUNG DER BEFUNDE

- Zwischen Serie 1 (5 C Gluc. , 90 mg kalte Gluc.) und
Serie 2 (5 C Gluc. , 45 mg kalte Gluc. , 45 mg kalte Fruct.)
beträgt die Abweichung 25,07 %
- Zwischen Serie 2 (5 C Gluc. , 45 mg k. Gluc. , 45 mg k. Fruct.) und
Serie 3 (5 C Gluc. , 90 mg k. Fruct.)
beträgt die Abweichung 17,04 %
- Zwischen Serie 1 (5 C Gluc. , 90 mg k. Gluc.) und
Serie 3 (5 C Gluc. , 90 mg k. Fruct.)
beträgt die Abweichung 37,84 %
- Zwischen Serie 4 (5 C Fructose, 90 mg k. Fruct.) und
Serie 5 (5 C Fructose, 45 mg k. Fruct. , 45 mg k. Gluc.)
beträgt die Abweichung 70,4 %
- Zwischen Serie 5 (5 C Fruct. , 45 mg k. Fruct. , 45 mg k. Gluc.) und
Serie 6 (5 C Fruct. , 90 mg k. Gluc.)
beträgt die Abweichung 8,84 %
- Zwischen Serie 4 (5 C Fruct. , 90 mg k. Fructose) und
Serie 6 (5 C Fruct. , 90 mg k. Glucose)
beträgt die Abweichung 62,91 %
- Zwischen Serie 8 (5 C Galakt. , 90 mg k. Galakt.) und
Serie 9 (5 C Galakt. , 45 mg k. Galakt. , 45 mg k. Gluc.)
beträgt die Abweichung 5,77 %
- Zwischen Serie 9 (5 C Galakt. , 45 mg k. Galakt. , 45 mg k. Gluc.) und
Serie 10 (5 C Galakt. , 90 mg k. Gluc.)
beträgt die Abweichung 70,4 %
- Zwischen Serie 8 (5 C Galakt. , 90 mg k. Galakt.) und
Serie 10 (5 C Galakt. , 90 mg k. Gluc.)
beträgt die Abweichung 68,58 %
- Zwischen Serie 1 (5 C Gluc. , 90 mg k. Gluc.) und
Serie 11 (5 C Gluc. , 45 mg k. Gluc. , 45 mg k. Galakt.)
beträgt die Abweichung 4,42 %
- Zwischen Serie 11 (5 C Gluc. , 45 mg k. Gluc. , 45 mg k. Galakt.) und
Serie 12 (5 C Gluc. , 90 mg k. Galakt.)
beträgt die Abweichung 15,18 %

Zwischen Serie 1 (5 C Gluc., 90 mg k. Gluc.) und
Serie 12 (5 C Gluc., 90 mg k. Galakt.)
beträgt die Abweichung 18,92 %

Zwischen Serie 2 (5 C Gluc., 45 mg k. Gluc., 45 mg k. Fruct.) und
Serie 11 (5 C Gluc., 45 mg k. Gluc., 45 mg k. Galakt.)
beträgt die Abweichung 28,37 %

Zwischen Serie 3 (5 C Gluc., 90 mg k. Fruct.) und
Serie 12 (5 C Gluc., 90 mg k. Galakt.)
beträgt die Abweichung 49,61 %

DISKUSSION

Zunächst sollen die Werte der einzelnen Monosaccharide und die der Disaccharide im Hinblick auf die verschiedenen Resorptionsgeschwindigkeiten diskutiert werden. Die erhaltenen Werte der Serien 1, 4, 8 und 13 stimmen größenordnungsmäßig mit denen von H. Mehnert, K. Stuhlfauth, H. Förster u. a. (63) überein. Da diese Autoren andere Versuchsbedingungen hatten, kann nicht direkt verglichen werden. Sie gaben die Resorption in Prozent des Darmangebotes an, und in der vorliegenden Arbeit wurden die Prozente der gesamt verabreichten Menge bestimmt, also auch von der Menge, die noch nicht in Magen und Darm zur Resorption gelangt waren. Außerdem verwendeten Mehnert, Stuhlfauth und Förster 10-, 20- und 50%ige Zuckerlösungen (hier 18 %), und die Prüfzeit betrug 15, 30 und 60 Minuten (hier 10 Minuten). Um unsere Ergebnisse mit der oben genannten Arbeit vergleichbar zu machen, erhielten bei uns zwei weitere Ratten per Schlundsonde 5 C Galaktose mit 90 mg kalter Galaktose in 0,5 ml destilliertem Wasser. Magen und Darminhalt wurden auf Radioaktivität geprüft.

Diese beiden Ratten wurden wie bei allen Versuchen 6 Stunden vor Versuchsbeginn auf Hunger gesetzt, die Substanz per Schlundsonde verabreicht, und 10 Minuten danach wurden die Ratten dekapitiert. Magen und Darm wurden sofort abgebunden (am Pylorus Doppelligatur) und herauspräpariert, anschließend getrennt durchspült und Spülwasser zentrifugiert. 0,1 ml der überstehenden Flüssigkeit kamen in 20 ml Dioxanscintillator gelöst im Scintillationszähler bei einer Hochspannungseinstellung von 4,6 und Diskriminatoreinstellung von A/B = 1,0/8,0 zur Messung. Die Scintillationslösung bestand aus 7 g PPO (2,5 Diphenyl-Oxazol), 0,3 g POPOP (1,4-bis (5-phenyloxazol-(2)-benzol) und 100 g Naphtalin in 1 l Dioxan. Die Ergebnisse gibt Tab. 3 wieder.

Mageninhalt	Darmangebot	noch vorhandener Darminhalt	% d. v. Darmangebot resorbierten Menge
51,4%(46,3mg)	48,8%(43,7mg)	3,6 %(3,2 mg)	92,7 % (Ratte 1)
46,2%(41,7mg)	53,7%(48,3mg)	2,2 %(2,0mg)	95,9 % (Ratte 2)

Tab. 3

Die Prozentzahlen von Mageninhalt und Darmangebot verstehen sich in Prozent der total verabreichten Menge an ¹⁴C-markierten Zuckern.

Die Retention im Magen liegt um 10-15 % höher als bei H. Mehnert und Mitarbeitern (63). Das mag daran liegen, daß unsere Tiere keinen Ätheraushauch bei der Schlundsonde bekamen und durch die nun eintretende Erregung die Magenentleerung verzögert wurde. Dagegen erfolgt die Resorption rascher. Die Erklärung dafür ist wohl in der bei uns geringeren Konzentration und in dem geringeren Angebot an Galaktose zu finden. H. Mehnert u. a. (63) fanden bei 260 mg in 1,3 ml dest. Wasser gelöst eine Resorption der in den Darm gelangten Galaktose von 75,6 %, bei 130 mg in 1,3 ml 80,8 %. Wenn man die anderen Versuchsbedingungen berücksichtigt, stimmen die Resorptionsgeschwindigkeiten in beiden Arbeiten überein. Galaktose wird mit Sicherheit am schnellsten resorbiert. Diese Differenz wird auch von Grafe (64) angegeben.

Fructose wird langsamer resorbiert als Galaktose und Glucose (65). Der hier angegebene Wert von 0,58 % (s. S. 25) kann jedoch nicht als Resorptionsrate angesehen werden. Dieser Wert basiert auf Messungen der Radioaktivität in der Leber. Es darf nicht übersehen werden, daß die Umsatzgeschwindigkeit der Fructose in der Leber sehr hoch ist (45). Ein Teil des ^{14}C wird schon nach kurzer Zeit als $^{14}\text{CO}_2$ abgeatmet und in Form von Stoffwechselprodukten über den ganzen Körper verstreut. So steigen nach Fructosegaben nach kurzer Zeit der Milchsäure- und Brenztraubensäurespiegel im Blut an. Die Resorptionsgeschwindigkeit der Fructose ist also sicher höher als die hier angegebene Einbaurate von 0,58 % der verabreichten Menge in die Leber.

Die Ergebnisse der stöchiometrischen Mischungen von Glucose und Fructose, bei denen wechselweise ein Monosaccharid markiert war (Serie 2 und Serie 5), lassen sich nicht ohne weiteres auf die Saccharose beziehen (Serie 7), da die Saccharose uniform markiert war. Daher blieb unbekannt, wie hoch der radioaktive Glucose- und Fructoseanteil in der Saccharose war. Eine vorsichtige Schätzung ist möglich, wenn man ein Verhältnis von 1 : 1 annimmt und einen Mittelwert aus den Ergebnissen der Serien 2 und 5 zum Vergleich heranzieht (= 14 799 dpm/100 mg Trockensubstanz). Dies ergäbe eine Differenz von 50 %. Wenn, den anderen Extremfall angenommen, die gesamte Aktivität des ^{14}C im Glucoseanteil oder umgekehrt im Fructoseanteil säße, änderte sich nicht viel an der Differenz. Der Unterschied würde in diesem Fall 44 % bzw. 58 % betragen. Daraus ist auf jeden Fall ersichtlich, daß die Saccharose etwa halb so schnell resorbiert wird wie ihre Hydrolysate.

D. Miller und R. K. Crane (43) stellten bei in vitro Versuchen am

Hamsterdünnarm fest, daß die Saccharose nicht, wie früher angenommen, durch Enzyme im Darmlumen gespalten wird, sondern erst intracellulär, und zwar hauptsächlich im Bereich der obersten Epithelzellen. Sie fanden z. B., daß bei der Resorption von Fructose aus Saccharose die Konzentration der Fructose in der Darmschleimhaut über die im umgebenden Medium stieg. Das ist aber durch den bekannten inaktiven Transport der Fructose nicht möglich und wird durch eine intracelluläre Aufspaltung der Saccharose erklärt. Die Saccharose scheint den limitierenden Faktor für die Resorptionsgeschwindigkeit zu bilden, da diese von der Konzentration und Trägheit des Enzyms abhängig ist. Das erklärt auch die um 50 % niedrigere Einbaurate der Saccharose gegenüber ihren Monosacchariden in der Leber.

Auch bei der Lactose muß die niedrige Aktivität der Lactase als die Ursache der langsamen Resorption angesehen werden, denn die Bestandteile des Disaccharids, die Glucose und Galaktose, sind die am schnellsten resorbierten Zucker. Die Spaltung der Lactose geht ebenfalls erst in den Darmepithelien vor sich. Offensichtlich ist jedoch die Menge des Enzyms in den Epithelzellen für die hydrolytische Spaltung der Lactose begrenzt.

Die Einbaurate der Glucose nahm bei Zugabe von Fructose laufend zu. Die Konzentration des insgesamt verabreichten Zuckers bleibt die gleiche, ebenso die der ^{14}C -markierten Glucose. Die Einbaurate steigt um 25 %, bzw. 17 % (Serien 1, 2 und 3) an. Strauß und Hiller (66) fanden, daß Fructose in Gegenwart von Insulin ein stärkeres Verschwinden der Glucose aus der Nahrungslösung verursacht und bezeichnen dieses Phänomen als "Mitnahmeeffekt". Stuhlfauth (67) u. a. beobachteten ein Absinken des Blutglucosespiegels bei Fructosegaben. Jedoch trat dieser "Glucosesturz" nur initial (nach 2 Minuten) und nach hohen Fructosegaben (i. v.) auf. Für diesen Mitnahmeeffekt spricht auch, daß bei uns bei Zugabe von Galaktose (anstelle von Fructose) zur Glucose die Aktivität eher absinkt (bis zu 50 % zwischen den Extremwerten beider Serien).

Am Zustandekommen dieser Erhöhung dürften auch noch andere Faktoren beteiligt sein. Nach H. Mehnert und Mitarbeiter bewirkt ein höheres Zuckerangebot an den Darm bei aktiv transportiertem Zucker wie Glucose und Galaktose ein Absinken der prozentualen Resorption (bei einem Darmangebot von 144,5 mg wurden in 15 Minuten 53,3 % resorbiert, bei 43,2 mg 80,8 %). Bei einem noch kleineren Angebot an Glucose dürfte diese auch prozentual noch besser resorbiert werden. Da in unseren Versuchen die Menge der ^{14}C -markierten Glucose gleich geblieben war und nur die kalte Substanz vermindert wurde, erhöhte sich außerdem relativ die Menge an

markierter Glucose, d. h. die Radioaktivität in der Leber stieg auch dadurch an.

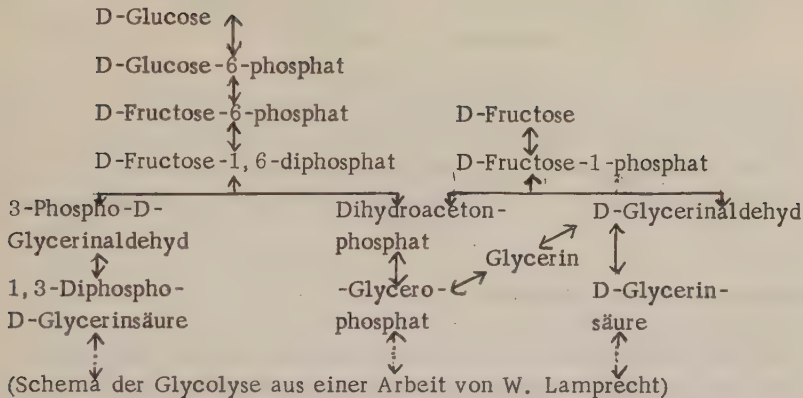
Die Einbaurrate der Fructose zeigte einen signifikanten Anstieg, wenn Glucose zugegeben wurde. Der Zuwachs bei einem Mischungsverhältnis Fruct. zu Glucose 1 : 1 betrug gegenüber dem Basiswert von reiner Fructose 70,4 %. Da die Fructose inaktiv transportiert wird, was bei Glucose erst in erheblich höheren Konzentrationen nachweisbar ist (43), dürfte eine erhöhte Einbaurrate in die Leber nicht durch eine Beeinflussung während der Resorption entstehen.

Für eine Erklärung dieses Befundes durch die relative Erhöhung der markierten Substanz, wie sie oben bei der Glucose beschrieben wurde, ist der Unterschied zu groß. Außerdem fällt die Aktivität bei dem Extremwert von Fructose zu Glucose (Serie 6), bei dem die spezifische Aktivität von Fructose noch höher ist, wieder leicht ab. Trotzdem dürfte die relative Erhöhung der spezifischen Aktivität beim Zustandekommen dieses Effektes mit wirksam sein.

Es wurde nach einem gemeinsamen Sammelbecken für ein Stoffwechselprodukt von Fructose und Glucose gesucht. Durch ein Einfließen gleicher Intermediärprodukte beider Zucker in einen gemeinsamen weiteren Abbauweg könnte es, z. B. auf Grund eines Enzyms als limitierenden Faktor, zu einer Stauung kommen und die Stoffwechselprodukte der Fructose in der Leber retiniert werden.

Für diese Auffassung bietet sich das Dihydroacetonphosphat an (s. Abb. 4). D-Glucose wird über D-Glucose-6-phosphat, D-Fructose-6-phosphat zu D-Fructose-1, 6-diphosphat phosphoryliert, welches zu 3-Phospho-D-glycerinaldehyd und Dihydroacetonphosphat gespalten wird. Diese beiden Spaltprodukte können ineinander übergehen, wobei aber das Gleichgewicht zu 96 % auf Seiten des Dihydroacetonphosphats verschoben ist.

Abb. 4

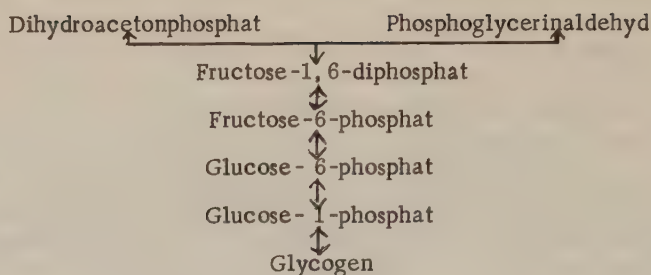


Im Unterschied dazu wird D-Fructose zu D-Fructose-1-phosphat phosphoryliert und dann in Dihydroacetonphosphat und D-Glycerinaldehyd gespalten. Hier können die Spaltprodukte nicht miteinander isomerisieren.

Dihydroacetonphosphat ist also sowohl im Abbauweg der Fructose wie der Glucose Intermediärprodukt. Bei alleiniger Fructosegabe werden nur 50 % der Spaltprodukte in Dihydroacetonphosphat übergeführt und in der glycolytischen Reaktionsreihe rasch weitergeführt. Bei der Glucose ist das Gleichgewicht der Spaltprodukte zu 96 % zugunsten von Dihydroacetonphosphat verschoben. Vorübergehend könnte es auf diese Weise zu einer Retention von markiertem ^{14}C -Dihydroacetonphosphat kommen.

In einer Erweiterung dieser Hypothese ließe sich annehmen, daß es durch eine erhöhte Konzentration des Dihydroacetonphosphats, entsprechend der Gleichgewichtslage im glycolytischen System, zu einer erhöhten Rekondensation von Phosphoglycerinaldehyd über Fructose-1,6-diphosphat, Fructose-6-phosphat, Glucose-6-phosphat, Glucose-1-phosphat zu Glycogen kommen würde (s. Abb. 5). Da das Glycogen in der Leber gespeichert wird, wäre auch damit eine höhere Einbaurate bei Glucose-Zusatz zur Fructose erklärt. ^{14}C -Glycogenmessungen unter diesen Bedingungen wurden von De Duve, Brüssel, durchgeführt.

Abb. 5



(aus einer Arbeit von F. Leuthardt)

Diese Überlegung wird durch die Tatsache untermauert, daß die Einbaurate ^{14}C -markierter Fructose bei der Versuchsreihe mit extremen Mischungsverhältnissen von Fructose zu Glucose praktisch nicht verändert wird. Eine Erniedrigung von 8,84 % liegt noch im Bereich der Fehlerbreite. Ein verschwindend kleiner Anteil (etwa 0,2 mg) von zu 50 % in Dihydroacetonphosphat gespaltenen Fructose steht einer zu 96 % in Dihydroacetonphosphat gespaltenen Menge aus 90 mg Glucose gegenüber. Auch hier würde durch den vermehrten Anfall von Dihydroacetonphosphat aus Glucose das ^{14}C -markierte Spaltprodukt aus Fructose gestaut oder vermehrt in Glycogen eingebaut werden.

Galaktose ist der einzige Zucker, bei dem die Versuchsreihe mit den extremen Mischungsverhältnissen von Galaktose zu Glucose (Serie 10) eine größere Differenz zu den beiden anderen Serien aufweist. Der Wert bei Verabreichung reiner Galaktose unterscheidet sich von dem bei Verabreichung von Galaktose zu Glucose im Verhältnis 1 : 1 nur um 5,77 %. Diese Differenz liegt im Bereich der Fehlergrenze. Dagegen fällt der Extremwert bei einem Verhältnis von Galaktose zu Glucose von etwa 1 : 450 (etwa 0,2 mg Galaktose zu 90 mg Glucose) um 68,58 % bzw. 70 % zu den vorhergehenden Serien 8 und 9 ab.

Da Galaktose der am schnellsten resorbierte Zucker ist und eine so verschwindend kleine Menge noch schneller resorbiert werden müßte, ist die Erklärung für die geringe Einbaurate in der Leber selbst zu suchen. Dazu ist es notwendig, den Stoffwechsel der Galaktose zu skizzieren. Die Galaktose wird zunächst in Galaktose-1-phosphat übergeführt, wobei ein Orthophosphat von ATP entnommen wird. Das Galaktose-1-phosphat wird dann durch eine Isomerase, die Uridinphospho-Glucose, in Glucose-1-phosphat

umgewandelt. Über den Mechanismus bei der Konfigurationsumkehr von C_4 herrscht noch Unklarheit. Daß die Umwandlung nicht über Triosephosphate läuft, haben Versuche mit Galaktose-1- ^{14}C gezeigt. 90 % der Radioaktivität erscheint an C_1 der Glucose (69).

Die Stoffwechselprodukte der Galaktose und Glucose laufen beim Glucose-1-phosphat zusammen. Die Umwandlung vom Galaktose-1-phosphat zum Glucose-1-phosphat ist reversibel. Der Reaktionsablauf liegt normalerweise zugunsten des Glucose-1-phosphats, da dieses in Glycogen oder Glucose-6-phosphat umgewandelt wird und diese Reaktionen rasch durchlaufen werden.

Bei einem großen Angebot von Glucose-1-phosphat aus großen Glucosemengen muß es bei einer so kleinen Menge von Galaktose zu einer Behinderung dieser Einschleusung kommen. Die Dissoziation von Uridindiphospho-Glucose (entstanden durch die UDP-Galakto-Epimerase) zu Uridinphosphat und Glucose-1-phosphat wäre dadurch verhindert. Von Leberfunktionstesten her ist bekannt, daß die in Überschuß verabreichte Galaktose in ungebundener Form nicht in der Leber gespeichert werden kann und im Urin erscheint. Dies könnte auch die Erklärung für die niedrige Einbaurate der Galaktose bei Serie 10 sein.

Bei der Zugabe kalter Galaktose zu markierter Glucose findet man im Gegensatz zu Serie 1, 2 und 3, bei denen zu der markierten Glucose kalte Fructose gemischt wurde, eine Abnahme der Einbaurate. Gegenüber dem Basiswert (Serie 1) zeigt Serie 11 eine Abnahme um 4,42 %, der Extremwert (Serie 12) um 18,9 %. Die geringe Abweichung um 4,42 % ließe keine Aussage zu, wenn die Tendenz zur Abnahme nicht beibehalten würde. Noch signifikanter sind die Unterschiede, wenn man die gleichen Mischungsverhältnisse von kalter Galaktose und kalter Fructose zur markierten Glucose vergleicht. Die Differenz der stöchiometrischen Mischungen beträgt 28,37 % (Serien 2 und 11), die der Extremwerte 49,61 % (Serien 3 und 12).

Die Abnahme der Einbaurate von markierter Glucose kann wieder auf Gleichgewichtsverschiebungen bei einem gemeinsamen Stoffwechselprodukt beruhen. Wie schon vorher ausgeführt, wird Galaktose in Glucose-1-phosphat übergeführt und mündet dann in den Glucosestoffwechsel ein. Der naheliegendste nächste Schritt wäre der Einbau in das Glycogen. Glucose muß erst über Glucose-6-phosphat in Glucose-1-phosphat umgewandelt werden, bevor es in Glycogen eingebaut werden kann. Da diese Vorgänge alle reversibel sind, ließen sich die vorher aufgeführten Verschiebungen der Einbaurate aus markierter Glucose durch einen Block des Glucose-1-phosphats aus Galactose erklären. Durch diesen Block würde weniger

Glucose in Glycogen eingebaut und bevorzugt über Triosen in den Embden-Meyerhof-Weg geleitet oder in andere Stoffwechselprodukte wie Glycerin, Kreatin usw. übergeführt werden.

ZUSAMMENFASSUNG

1. Es wurde untersucht, ob die Einbauraten von Glucose, Fructose und Galaktose in der Rattenleber durch Variationen der Mischungsverhältnisse dieser Zucker beeinflusst werden können.
2. Die untersuchten Mono- oder Disaccharide wurden an Ratten durch Schlundsonde verabreicht. 10 Minuten nach den Zuckergaben wurde die Leber der Tiere aufgearbeitet.
3. Zur Anwendung kamen ^{14}C -markierte Zucker. Die getrockneten Rattenlebern wurden nach der Methode nach Kalberer und Rutschmann verascht und im Flüssigkeits-Scintillations-Zähler die Kohlenstoff- 14 -Aktivität gemessen. Die Zuckermischungen enthielten pro Tier $5\text{ }\mu\text{ Curie}$ eines der drei ^{14}C -markierten Zucker.
4. Zugabe von unmarkierter Fructose zu markierter Glucose führte zu einer Erhöhung der Einbaurate der Glucose.
5. Zugabe von unmarkierter Glucose zu markierter Fructose führte zu einer starken Erhöhung der Einbaurate der Fructose.
6. Zugabe von unmarkierter Glucose zu markierter Galaktose führte bei einer extrem niedrigen Galaktosekonzentration zu einer starken Erniedrigung der Einbaurate von markierter Galaktose.
7. Zugabe von unmarkierter Galaktose zu markierter Glucose führte zu einer leichten Erniedrigung der Einbaurate der Glucose.
8. Unter gleichen Versuchsbedingungen wurden die Einbauraten von Saccharose und Lactose untersucht und eine weitaus geringere Einbaurate als bei den entsprechenden Monosacchariden gefunden.

Die vorliegende Arbeit wurde unter Leitung von Herrn Professor Dr. K. Stuhlfauth und Herrn Professor Dr. W. Lamprecht in der Zeit von Mai 1964 bis Mai 1965 an der Medizinischen Poliklinik der Universität und am Biochemischen Laboratorium der Technischen Hochschule München durchgeführt.

Herrn Professor Dr. W. Lamprecht möchte ich besonders herzlich für seine verständnisvolle Hilfe danken.

Herrn Professor Dr. K. Stuhlfauth danke ich für seine großzügige und wertvolle Förderung meiner Arbeit.

Fräulein Dr. Ingeborg Kupke und Herrn Dr. P. Rauschenbach möchte ich für ihre zahlreichen Ratschläge meinen Dank aussprechen.

LITERATURVERZEICHNIS

1. LOHMANN, Biochem. Zschr. 262, 137 (1933)
2. WARBURG und CHRISTIAN, Biochem. Zschr. 314, 149 (1943)
3. BÜCHER und Mitarb., Naturwiss. 40, 59 (1953)
4. BÜCHER, Biochim. Biophys. Acta 1, 292 (1947)
5. LEUTHARDT, F. und TESTA, E., Helvet. Physiol. Pharmacol. Acta 8, 67 (1950)
6. LEUTHARDT, F. und TESTA, E., Helvet. Chim. Acta 36, 227 (1953)
7. Cori, C.F., Biol. Sympos. Lancaster 5, 131 (1941)
8. KJERULF-JENSEN, A., Acta Physiol. Scand. 4, 249 (1942)
9. PANY, J., Zschr. Physiol. Chem. 272, 273 (1942)
10. HERS, H. G., Le metabolisme du Fructose, Editions Ascaris Bruxelles 1957
11. KUYPER, Ch. M.A., Koninkl., Nederl. Akad. Wetensch. Proc. Ser. C 62, 436 (1959)
12. FITCH, W. M. und CHAIKOFF, I. L., J. Biol. Biophys. Acta 58, 588 (1962)
13. HILL, R., BAKER, N., CHAIKOFF, I. L., J. Biol. Chem. 209, 705 (1954)
14. HILL, R., CHAIKOFF, I. L., Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 91, 256 (1956)
15. COLOWICK, S. P., The Enzymes, Vol. II, 130 (1951)
16. BELOFF-CHAIN, A., CATANZARO, R., CHAIN, E. E., MASI, I. und POCCHIARI, F., Ann. Acad. Sci. Fenn. 60, 412 (1955)
17. LARSSON, S., Acta Physiol. Scand. 52, 171 (1961)
18. HERS, H. G., KUSAKA, T., Biochim. Biophys. Acta 11, 427 (1953)

19. LEUTHARDT, F. und WOLF, H. P.,
Helv. Chim. Acta 37, 1734 (1954)
20. PEANASKY, R.J., und LARDY, H.,
Journ. Biol. Chemistry, 233, 365 (1958)
21. RICHARDS, O.C. und RUTTER, W.I.,
Journ. Biol. Chemistry, 236, 3177 (1961)
22. RUTTER, W.I., RICHARDS, O.C. und WOODFIN, B.M.,
Journ. Biol. Chemistry, 236, 3193 (1961)
23. WOLF, H. P., LEUTHARDT, F.,
Helv. Chim. Acta 40, 1033 (1957)
24. SCHAPIRA, F.,
Compt. Rendus 247, 157 (1958)
25. LEUTHARDT, F. und WOLF, H. P.,
Helv. Chim. Acta 37, 1732 (1954)
26. WOLF, H. P. und LEUTHARDT, F.,
Helv. Chim. Acta 36, 1463 (1953)
27. HOLZER, H. und SCHNEIDER, S.,
Klin. Wo. 33, 1006, (1955)
28. HOLZER, H. und SCHNEIDER, S.,
Angew. Chem. 67, 276 (1955)
29. LAMPRECHT, W. und HEINZ, F.,
Zschr. f. Naturforschung, 13b, 464 (1958)
30. HEINZ, F. und LAMPRECHT, W.,
unveröffentlichte Versuche
31. HEINZ, F. und LAMPRECHT, W.,
Zschr. f. Physiol. Chem. 324, 88 (1961)
32. LINDBERG, O.,
Biochim. Biophys. Acta 7, 349 (1951)
33. PFLÜGER, E.,
Pflüger's Archiv. Physiol. 121, 559 (1907)
34. CORI, G. T., OCHOA, S., SLEIN, M. W., CORI, C. F.,
Biochim. Biophys. Acta 7, 304 (1951)
35. CHERNICK, S. S., CHAIKOFF, I. L., ABRAHAM, S.,
Journ. Biol. Chemistry 193, 527 (1951)
36. HERS, H. G.
Journ. Biol. Chemistry 214, 373 (1955)

37. STUHLFAUTH, K., ENGELHARDT-GOELKEL, A., SCHAFFRY, J.,
Med. Klin. 51, 1672 (1956)
38. GREMELS, H., NAUNYN-SCHMIEDEBERGS,
Arch. Exper. Path. 203, 225 (1944), 205, 57 (1948)
39. THORN, W., BUCH, E. W., PHILLIPPU, A., LIEMANN, F.,
Pflüger's Archiv 272, 490 (1961)
40. DARLINGTON, W. A., QUASTEL, J. H.,
Arch. Biochem. Biophys. 43, 194 (1953)
41. KIYASU, I. J., CHAIKOFF, I. L.,
Journ. Biol. Chemistry 216, 935 (1957)
42. WILSON, T. H., VINCENT, T. N.,
Journ. Biol. Chemistry 216, 851 (1955)
43. MILLER, D., CRANE, R. K.,
Biochim. Biophys. Acta 52, 281 (1961)
44. GINSBURG, V., HERS, H. G., Biochim. Biophys. Acta 38, 427 (1960)
45. CORI, C. F., CORI, G. T.,
Journ. Biol. Chemistry 76, 755 (1928)
46. WILBRANDT, W., LASZT, L.,
Biochem. Z. 259, 398 (1933)
47. FAHRLÄNDER, H., STAUB, H.,
Helv. Physiol. Pharm. Acta 9, 46 (1951)
48. OPPENHEIMER, S., Biochem. Z. 45, 30 (1912)
49. CRAIG, I. W., MILLER, M., OWENS, I. E., WOODWARD, H.,
BROFMAN, B., PRITCHARD, W. H.,
Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 78, 698 (1951)
50. MENDELOFF, A. I., WEICHSELBAUM, T. E.,
Metabolism 2, 450 (1953)
51. HELMREICH, E., GOLDSCHMIDT, St., LAMPRECHT, W.,
RITZL, F., Zschr. Physiol. Chem. 292, 184 (1953)
52. FRIDHANDLER, L., QUASTEL, I. H.,
Arch. Biochem. Biophys. 56, 412, (1955)
53. LEUTHARDT, F., Lehrbuch d. Physiol. Chem., 14. Aufl., (1959) S. 207

54. KOSTERLITZ, H. W., *Biochem.J.* (London) 31, 2217 (1937)
55. CAPUTTO, R., LEROIR, L.F., TRUCCO, R.E., CARDINI, C.E.,
PALADINI, A.C., *J. Biol. Chem.* 179, 497 (1949)
56. CAPUTTO, R., LEROIR, L.F., CARDINI, E.C., PALADINI, A.C.,
J. Biol. Chem. 184, 333 (1950)
57. KALBERER, F. und RUTSCHMANN, J.,
Helv. Chim. Acta Vol. XLIV, Fasciculus VII
(1961) Nr. 242
58. Aus: *Klinisch-chemische Untersuchungsmethoden mit dem Photometer*
Eppendorf
59. SCHÖNINGER, W., *Microchim. Acta* 123 (1955), 869 (1956)
60. GÖTTE, H., KRETZ, R., BADDENHAUSEN, H.,
Angew. Chem. 69, 651 (1957)
61. HABERSBERGEROVA-JENICKOVA, A., CIFKA, J.,
Collect. Czechoslov. Commun. 24, 3777 (1959)
62. HEMPEL, W., *Gasanalytische Methoden*, 3. Aufl. Braunschweig
1900
63. MEHNERT, H., FÖRSTER, H., MEHNERT, B., B. v. KUTZSCHEN-
BACH, I. THÖRUNG, K. ARBOGAST,
Klin. Wochenschr. 41, 540 (1963)
MEHNERT, H., FÖRSTER, H., STUHLFAUTH, K., MEHNERT, B.,
GESER, H., LANGER, M.,
Klin. Wochenschr. 41, 544 (1963)
FÖRSTER, H., MEHNERT, H., STUHLFAUTH, K., MEHNERT, B.,
TAMMEN, H., BAILER, P.,
Klin. Wochenschr. 41, 549 (1963)
64. GRAFE, E., *Ernährungs- und Stoffwechselkrankheiten*, 2. Aufl.
S. 539 (Springer 1958)
65. LEUTHARDT, F., STUHLFAUTH, K.,
Medizinische Grundlagenforschung, Band III (1960)
66. STRAUSS, E., HILLER, I.,
Aerzt. Forsch., Würzburg, 4, 326 (1952)
67. STUHLFAUTH, K., *Aerzt. Forsch.*, Würzburg 5, 414 (1951)

68. WEICHSELBAUM, Th., MARGRAF, KH. W., ELMAN, K.,
Metabolism of intravenously infused Fructose
in man Metabolism,
Baltimore, 2, 434 (1953)
69. TOPPER, Y.I., STETTEN, D.Y.,
Biol. Chem. 193, 149 (1951)
70. RAUSCHENBACH, P. und LAMPRECHT, W., HOPPE-SEYLER's Zeit-
schrift für physiologische Chemie, Band 339,
S. 277 - 292, 1964
71. STUHLFAUTH, K., HOFFMANN, E., HEINZ, F.,
Klin. Wo. 40. Jahrg. Heft 22 (Lactosaemie und
Lactosurie vor und nach Lactosebehandlung)

LEBENS LAUF

Am 28. April 1939 wurde ich in Hirschberg/Schlesien als Sohn des Bankdirektors Georg Nawrath und seiner Ehefrau Dorothea Nawrath (geb. Vogt) geboren.

Die ersten beiden Jahre der Grundschule besuchte ich in Hof an der Saale, das 3. und 4. Grundschuljahr in Wiesbaden. Hier besuchte ich ab 1950 ein Realgymnasium und bestand 1960 das Abitur.

Im Frühjahr 1960 begann ich das Medizinstudium an der Johannes-Gutenberg-Universität in Mainz, bestand dort im Frühjahr 1961 die naturwissenschaftliche Vorprüfung und im Herbst 1962 die ärztliche Vorprüfung. Am 16. Dezember 1965 schloß ich das Universitäts-Studium mit der ärztlichen Prüfung ab.

